

## 博士論文審査結果の要旨

学位申請者 鈴木 智 之

主論文 1 編

TGF- $\beta$  signaling regulates pancreatic  $\beta$ -cell proliferation through control of cell cycle regulator p27 expression.

ACTA histochemica et cytochemica; Epub ahead of print, 2013 Mar 5

## 審 査 結 果 の 要 旨

ランゲルハンス島にある膵  $\beta$  細胞は生体内でのブドウ糖の調節に中心的な役割を持ち、インスリンの分泌により血中ブドウ糖濃度を調節する。糖尿病では膵内分泌細胞がインスリンの需要の変化に適応できなくなっている病態である。成人ではほとんどの  $\beta$  細胞は静止期にいると考えられる。一方、TGF- $\beta$  は細胞の増殖や分化を制御しており、その経路はサイクリン依存性キナーゼ抑制因子(CKI)がサイクリン依存性キナーゼ 4(CDK4)-サイクリン D 複合体の活性を調節し、細胞周期の G1 期から S 期への移動を調節することが知られている。CKI には INK4 ファミリー(p15,p16,p18,p19)と Cip/Kip ファミリー(p21,p27,p57)の 2 つのグループがある。

申請者は、ハムスター膵  $\beta$  細胞ラインである HIT-T15 を用いて  $\beta$  細胞における TGF- $\beta$  シグナリングの影響を調査した。まず、HIT-T15 を培養したところ、TGF- $\beta$  とともに培養したものは増殖が抑えられ、TGF- $\beta$  阻害薬とともに培養したものは増殖が促進された。BrdU を用いて S 期の細胞の割合を調べたところ、TGF- $\beta$  とともに培養した細胞は S 期の細胞が減少しており、TGF- $\beta$  阻害薬とともに培養した細胞は S 期の細胞が増加していた。このことから、TGF- $\beta$  シグナリングは HIT-T15 細胞を G1 期から S 期への移動を阻害することにより、増殖を制御していると考えた。HIT-T15 細胞に発現している CKI を免疫染色により測定したところ、p15,p16,p19,p27 が発現しており、p18,p21,p57 は発現していなかった。発現の様子を観察すると、p27 は核内に存在し、その存在量は様々であるため、p27 が細胞周期を制御する鍵となる役割を担っていると考えた。HIT-T15 細胞に T $\beta$ R1 が持続的に活性化されている ALK5(以下 ALK5\*と表記)をトランスフェクションしたところ、核内での p27 の発現量は多くなる傾向があり、TGF- $\beta$  阻害薬とともに培養した細胞の核内での p27 の発現量は少なくなる傾向があった。TGF- $\beta$  シグナリングは核内の p27 の発現量に影響を及ぼし、その細胞周期の進行を制御していることが示唆された。さらに、p27 の転写量をデュアルルシフェラーゼアッセイで測定したところ、ALK5\*をトランスフェクションした細胞も、TGF- $\beta$  阻害薬とともに培養した細胞も、p27 の転写量は変化がなかった。このことから、TGF- $\beta$  シグナリングは細胞内の p27 の転写量を調節することなく、発現量を調節していると考えられた。

以上が要旨であるが、膵  $\beta$  細胞内において増殖を制御する TGF- $\beta$  シグナリングを解明したという点において、医学的価値ある研究と認める。

平成 25 年 4 月 18 日

審査委員 教授 中 村 直 登 ㊞

審査委員 教授 奥 田 司 ㊞

審査委員 教授 柳 澤 昭 夫 ㊞